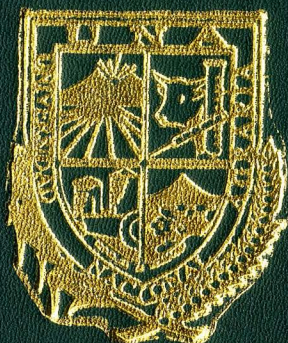


UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

Facultad de Ciencia Animal
Departamento de Veterinaria



Trabajo de Graduación

Cambios Histológicos en Organos Internos de
Rhipicephalus (Boophilus) Microplus, Causado
por Lactonas Macrocíclicas : Ivermectina 1^o/_o
Doramectina 1^o/_o y Abamectina 1^o/_o

Autores :

Bra. Andrea Sofia Saravia Bonilla
Bra. Balford Geovanny Vindell Amador

Asesores :

MU. César Augusto Mora Hernández PhD.
Cristóbal Roldan Corrales PhD.

MANAGUA, NICARAGUA

Agosto 2013



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
FACULTAD DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE VETERINARIA

Trabajo de Graduación

Cambios Histológicos en órganos internos de
Rhipicephalus (Boophilus) microplus, causado por
Lactonas Macrocíclicas: Ivermectina 1%, Doramectina 1%
y Abamectina 1%

AUTORES

Br. Andrea Sofia Saravia Bonilla
Br. Balford Geovanny Vindell Amador

ASESORES

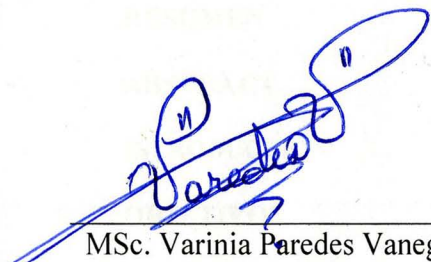
MV. César Augusto Mora Hernández PhD.
Cristóbal Roldan Corrales PhD.

Managua, Nicaragua
Agosto 2013

Este trabajo de graduación fue evaluado y aprobado por honorable tribunal examinador designado por la decanatura de la facultad Ciencia animal como requisito parcial para optar al título profesional de:

Medico Veterinario
En el grado de Licenciatura

Miembros del tribunal examinador



MSc. Varinia Paredes Vanegas
Presidente



Dr. Carlos Sáenz Scott
Secretario

PhD. Ligia Hernández Salgado
Vocal

Managua, Nicaragua
Agosto 2013

ÍNDICE DE CONTENIDO

SECCIÓN	PÁGINA
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
ÍNDICE DE ANEXOS	v
RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
I INTRODUCCIÓN	1
II OBJETIVOS	3
III MATERIALES Y MÉTODOS	4
IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN	8
4.1. Oviductos	8
4.2. Tráquea	10
4.3. Ovarios	11
4.4. Intestinos	12
4.5. Tubos de Malpighi	13
4.6. Glándulas salivares	13
Descripción histológica de daños en órganos internos de <i>Rhipicephalus</i> (<i>Boophilus</i>) <i>microplus</i> causados por las moléculas	14
V CONCLUSIÓN	26
VI RECOMENDACIONES	27
VII ANEXO	28
VIII BIBLIOGRAFIA	34

DEDICATORIA

Este trabajo primero que nada se lo dedico a Dios por haber permitido que mi familia estuviese presente y con bien, para así ser parte de esta transición de estudiante a profesional.

También se lo dedico especialmente a mi madre, Yamileth del Carmen Bonilla Vílchez, por ser Padre y Madre, y no dejarse abatir por las adversidades de la vida, por sacarme adelante hasta estos momentos, es así que aprendí de ti a luchar por mis proyectos. No encuentro las palabras para poder agradecer todo tu apoyo incondicional para así yo poder culminar mi carrera de Medicina Veterinaria.

A mi compañero, Balford Vindell, por apoyarme desde un principio en esta tesis, has sido incondicional y trabajador, gracias por ser paciente conmigo, nos tocó duro pero la verdad que el esfuerzo valió la pena.

Andrea Saravia Bonilla

Dedico esta investigación principalmente a Dios por haberme dado la vida y permitirme llegar hasta este momento tan importante en mi formación profesional.

A mi familia por nunca darse por vencidos y apoyarme y alentarme siempre, por estar a mi lado en los buenos y malos momentos, a mis amigos que de manera directa e indirecta colaboraron para alcanzar este logro.

A mi compañera Andrea por comprenderme, alentarme, ser paciente y ayudarme a seguir adelante y nunca darme por vencido, por estar conmigo en los buenos y malos momentos de mi vida.

Balford Vindell Amador

AGRADECIMIENTOS

Le agradecemos primeramente a Dios por haber puesto a buenas personas que sin ningún interés estuvieron dispuestos a ayudarnos incondicionalmente, a los docentes que nos transmitieron sus conocimientos, para formarnos como los profesionales que somos hoy, que nuestro señor los llene de bendiciones y riquezas a todos. En especial:

A nuestro Tutor, M.V. MSc. PhD. César Augusto Mora H., por brindarnos su apoyo desde inicios de nuestra formación como veterinarios, por transmitirnos sus conocimientos dentro y fuera de los salones de clases, por habernos facilitado el tema de investigación, por su dedicación, paciencia, orientación y disposición a este trabajo.

A Dra. Varinia Paredes, Dra. Mireya Lamping y Lázaro Morejón por transmitirnos conocimientos en las aulas de clases y por brindarnos su apoyo incondicional en nuestros proyectos y por apoyarnos en la revisión del trabajo.

A Ing. Rosa A Rodríguez por apoyarnos en la revisión y estructuración de nuestra investigación.

Al técnico Julio Mercado, Dra. Ligia Hernández, Dr. Daniel Morales y Dr. William Jirón, todos partes del programa de Medicina Veterinaria de la UNAN-León, por habernos permitido estar presente en los procesos para obtener los cortes histológicos y por compartir sus conocimientos y experiencias con nosotros. Por habernos integrado activamente en el simposio y en el curso de taxonomía de garrapata, que fue de gran ayuda en nuestra tesis.

Al Sr. Oscar Icabalzeta por haber confiado en nosotros y facilitarnos sus animales para llevar a cabo el estudio.

Agradecemos a todas aquellas personas y amigos que de alguna forma colaboraron directa e indirectamente en la realización de este trabajo.

Andrea Sofía Saravia Bonilla y Balford Vindell Amador

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
i Figura 1 Esquema del Oviducto	8
ii Figura 2. Histología del Oviducto	8
iii Figura 3. Esquema del sistema Traqueal	10
iv Figura 4. Histología de tráquea	10
v Figura 5. Sección transversal del Ovario	11
vi Figura 6. Racimo de Ovarios Con todas sus etapas	11
vii Figura 7. Células Intestinales (1000X Tricrómico de Masson)	12
viii Figura 8. Esquema intestinal	12
ix Figura 9. Esquema del tubo de malpighi	13
x Figura 10. Túbulo de malpighi conteniendo guanina en su luz	13
xi Figura 11. Esquema de la Glándula salival	13
xii Figura 12: Histología de la glándula salival	13
xiii Figura 13. Órganos con alteraciones causadas por ivermectina 1%	14
xiv Figura14. Lesiones en órganos internos causados por Abamectina 1%	17
xv Figura 15. Lesiones en órganos internos causados por Doramectina 1%	19
xvi Figura 16. Lesiones en tubos de malpighi causados por las moléculas en estudio	21
xvii Figura 17. Lesiones en glándulas salivares causados por las moléculas en estudio	23

INDICE DE ANEXOS

ANEXO	PÁGINA
1 Foto de Bovino afectado por garrapatas seleccionado para estudio	27
2 Recolecta de especímenes en estudio	27
3 Inoculación de formalina 10% por la placa anal	28
4 Extracción de cutícula o exoesqueleto	28
5 Órganos internos luego de 2 días de inclusión en formalina 10%	29
6 Cassetts en máquina deshidratadora de tejido	29
7 Inclusión de tejidos en parafina	30
8 Realización de cortes en el microtomo	30
9 Corte en baño María antes de ser montado en portaobjetos	31
10 Láminas sumergidas en tinción de Eosina	31
11 Preservación de los cortes con bálsamo de Canadá y cubre objeto	32

RESUMEN

En la presente investigación se identificaron los daños en los órganos internos de hembras adultas en diferentes estados de ingurgitamiento de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, causadas por Lactonas Macrocíclicas: Ivermectina 1%, Abamectina 1% y Doramectina 1%, moléculas que son utilizadas a gran escala para el control de endo y ectoparásitos en nuestro país, demostramos que no es necesario utilizar presentaciones de estas moléculas a más del 1% de concentración. Las muestras fueron procesadas en parafina para obtener cortes histológicos con el objetivo de observar las alteraciones provocadas por las moléculas en estudio, se practicaron cortes sagitales y transversales para enfocar distintos ángulos de los órganos internos, los cortes se tiñeron con hematoxilina y eosina, revelando daños en los órganos en estudio. Las lesiones encontradas en los diferentes órganos internos de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, causadas por las tres moléculas de lactonas macrocíclicas del grupo de las Avermectinas comerciales en concentraciones de 1%, son idénticas en diferentes niveles de ingurgitación de teleóginas adultas, lo que va a influir directamente sobre la capacidad de alimentarse, influyendo por consiguiente en la reproducción, por lo cual las posturas van a ser afectadas, favoreciendo los planes sanitarios de control integrado de garrapatas en los pastizales.

Palabras Clave: Histopatología, artrópodos, avermectinas

ABSTRACT

In the present study identified damage to the internal organs of adult females in different stages of engorgement of ticks *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, caused by macrocyclic lactones: Ivermectin 1% 1% Abamectin doramectin 1%. Molecules that are used for large scale control of endo and ectoparasites in our country, we demonstrate that it is not necessary to use these molecules presentations more than 1% concentration. Samples were processed in paraffin for histological sections in order to observe the changes caused by the molecules under study were performed sagittal and transverse to focus different angles of internal organs, sections were stained with hematoxylin and eosin, revealing damage in the organs under study. Lesions found in various internal organs of the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, caused by the three molecules macrocyclic lactones commercial avermectin group at concentrations of 1%, are identical in different levels of adult engorged engorgement, which will directly influence the ability to feed, thus influencing the reproduction, so the positions will be affected, promoting health plans integrated control of ticks in pastures.

Keywords: Histopathology, Arthropods, Avermectins

I. Introducción

La garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* figura como uno de los ectoparásitos de mayor importancia económica a escala mundial, por las mermas que ocasiona en la producción de ganado bovino (Bayer, 2006) sobre todo si se tiene en cuenta que según, (Junquera, 2013), bastan de 20 a 30 garrapatas para producir daño.

El impacto económico negativo de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* la ganadería se debe a efectos directos e indirectos (Lima *et al.*, 2000) citado por (González, 2007); directos por los daños a las pieles, pérdida de sangre y disminución de parámetros productivos (Rosado *et al.*, 2008) indirectos por ser principales vectores de enfermedades en los animales domésticos y silvestres (De la Fuente *et al.*, 2008).

El método más utilizado para el control de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, es el uso de productos químicos tales como organofosforados, piretroides, amidinas, fenilpirazolonas y lactonas macrocíclicas, sin embargo, a través del tiempo el uso irracional de estos químicos ha generado el desarrollo de resistencia a los diferentes ixodicidas (Ojeda-Rodríguez *et al.*, 2011). Las lactonas macrocíclicas son activas para el control de nemátodos y artrópodos a dosis bajas en la mayoría de los animales domésticos (Sumano y Ocampo, 2006).

Con el fin de controlar este problema muchos investigadores y laboratorios han realizado múltiples investigaciones pero debido a la poca información sobre la anatomía e histología de estos ectoparásitos el control se convierte en un problema muy serio de tratar.

Se han realizado investigaciones sobre daños en órganos histológicos que provocan los anticuerpos producidos por vacunas, pero aún no se han publicado investigaciones que describan los daños histológicos provocados por lactonas macrocíclicas, con esta investigación se logró la descripción de daños histológicos en órganos internos producidos por dichas moléculas.

Este trabajo investigativo abre las puertas a investigadores para seguir indagando en el tema y así lograr descifrar una forma estratégica de combatir este problema, a través de la descripción histológica de órganos sin alteración y la descripción de daños encontrados en órganos internos producidos por las moléculas en estudio.

II. Objetivos

2.1.GENERAL

Conocer la estructura histológica de los órganos internos de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, utilizando técnicas convencionales de procesamiento de tejidos de artrópodos y comparar las lesiones causadas en los mismos, por Lactonas macrocíclicas: Ivermectina 1%, Doramectina 1% y Abamectina 1%.

2.2. ESPECÍFICOS

- Identificar órganos internos de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* sin ninguna alteración, a través de técnicas histológicas.
- Identificar los cambios histológicos en los órganos internos de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, ocasionados por Ivermectina 1%, Abamectina 1% y Doramectina 1%.
- Describir los cambios histológicos provocados por cada una de las moléculas estudiadas.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó el experimento en especímenes de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, dividido en dos fases, una de campo y la otra en laboratorio, que abarcó el período de Marzo-Octubre 2012.

El ensayo fue establecido en la finca Buena Vista, localizada en el municipio de La Libertad, Chontales, con las coordenadas geográficas 12° 12' latitud norte y 85°10' longitud oeste. La finca Buena Vista se encuentra a una altura de 498.85 msnm, posee un clima húmedo tropical, con precipitaciones anuales de 1,200 y 2,000 mm y una temperatura promedio que varía de 24° a 27° C.

La primera fase comprendió el tratamiento con Ivermectina 1%(genérica), Abamectina 1% (Génesis ® LA) y Doramectina 1% (Dectomax ®), utilizando las dosis (200 mcg/ 1kg pv ó 1ml/50 kg pv) y tiempo de aplicación (cada 21 días durante 3 meses) recomendados por el fabricante, a un grupo de 60 vacas, divididas en sub-grupos de 20 vacas por cada molécula, debidamente identificadas; la recolecta de muestras correspondientes a cada animal, fueron realizadas en las siguientes fechas:

El 20 de marzo se realizó la primera aplicación de tratamiento a los animales dispuestos a la investigación, la recolecta de los especímenes se procedió a realizar el 30 de Marzo. Los especímenes fueron procesados dos días posterior a cada recolecta.

El 10 de abril se procedió a la segunda aplicación del tratamiento con la recolecta de los especímenes el 20 de abril y su posterior procesamiento el 22 de abril.

La tercer y última aplicación de tratamiento fue realizada el primero de mayo y la colecta de especímenes el día 11 de mayo, con proceso el día 13 de mayo.

La viabilidad de los especímenes se aseguró llevándolos en frascos de muestreo con algodón húmedo.

La segunda fase fue realizada en el Laboratorio de Biopatología de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León (UNAN-León).

Para realizar los cortes histológicos de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* se utilizó la siguiente metodología:

1. Se lavaron los especímenes con agua destilada y secaron con papel filtro.
2. Se procedió la inoculación de formalina 10% PA (puro para análisis) directamente a través de las placas peritremáticas y anal en hembras ingurgitadas, a una dosis de 50-150µl, con una jeringa de 1ml y aguja 25 G, dejándolas por 10 minutos, para facilitar el desprendimiento de la cutícula.
3. La disección se realizó bajo una lupa estereoscópica, con 15X de aumento, usando hojas de bisturí N ° 11. Se comenzó la incisión en el surco marginal, sin pasar por el idiosoma y separar el escudo dorsal de los festones, continuando la incisión en el surco genital hasta el ángulo escapular. luego la capa se separó con la ayuda de pinzas de relojero, así los órganos internos fueron expuestos para ser conservados nuevamente en formalina 10% PA durante tres días.
4. Para la deshidratación del tejido de los especímenes se pasaron por diferentes líquidos deshidratadores: 2 alcoholes al 70%, 1 alcohol al 80%, 1 alcohol al 98%, 1 alcohol al 100% y dos parafinas, con un tiempo estimado de 15 minutos entre cada líquido.
5. Con ayuda de la Máquina incluidora en parafina, se procedió a la inclusión de los tejidos en Casette que se utilizan para formar bloques de parafina, apoyándose con el mechero para evitar que el tejido se adhiriera a la pinza; las muestras incluidas fueron refrigeradas por 10 minutos para acelerar el proceso de solidificación de la

parafina, cabe mencionar que se posicionaron algunos tejidos de manera que al momento del corte estos fuesen transversal y longitudinal.

6. Una vez los tejidos solidificados en los bloques, se procedió a cortar en el micrótomo con grosor de 3-5 micras.
7. Al finalizar los cortes fueron trasladados al baño maría que se encontraba a una temperatura de 60°C, para facilitar su fijación a los portaobjetos, luego los portaobjetos se trasladaron al horno a una temperatura de 60°C para fijar el tejido y remover el excedente de parafina, por un período de 15 a 20 minutos.
8. La tinción de estos cortes se realizó de la siguiente manera:

- 8.1. Las muestras fueron sumergidas en tres Xiloles para limpiar los excesos de parafina que pudieron haber quedado del paso anterior, las muestras se sumergieron por 3 minutos en cada Xilol.

- 8.2. Luego fueron sumergidas en 5 alcoholes al 100% durante 5 minutos en cada uno.

- 8.3. Después se pasaron por hematoxilina por un tiempo de 10 segundos y se procedió a enjuagar con agua, con delicadeza, hasta retirar el exceso de hematoxilina.

- 8.4. Luego fueron sumergidos una vez en hidróxido de amonio para que la coloración de hematoxilina no sea retirada por la eosina.

- 8.5. Posteriormente se sumergieron en eosina durante 4 o 5 minutos (Esto en dependencia de la vejez de la eosina).

- 8.6. Finalmente se volvió a sumergir en 3 alcoholes al 100% por periodos de 2 o 3 minutos en cada uno.

8.7. Fueron colocadas nuevamente en el horno a 60°C por 10 minutos aproximadamente.

8.8. Para preservación de la muestra histológica se añadió Bálsamo del Canadá, hasta cubrirla y se coloca un cubre objeto. Se secó después de 10-15 minutos. Láminas listas para su lectura en el microscopio.

La lectura y diagnóstico de las láminas procesadas, se realizó en el período de agosto a octubre 2012, en el Laboratorio de Parasitología del Departamento de Veterinaria de la Facultad de Ciencia Animal de la Universidad Nacional Agraria (UNA).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Previo a la discusión de los resultados obtenidos, propiamente dichos en los daños causados por las moléculas en estudio sobre los órganos internos de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, se hace necesario describir la histología normal de las garrapatas controles, las cuales fueron colectadas de bovinos no tratados o grupo testigo. En orden aleatorio y no anatómico se describen las ultra estructuras de cada órgano.

Cabe mencionar que los cortes histológicos obtenidos de este grupo control, son estructuralmente idénticos a los obtenidos por (De La Vega *et al.*, 2012); (Mora, 1996); (Kemp & Agbede, 1986); (Balashov, 1972); (Till 1961).

Descripción anatómica e histología normal de órganos internos de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Oviductos



Figura 1. Esquema de oviducto
Balashov (1972)

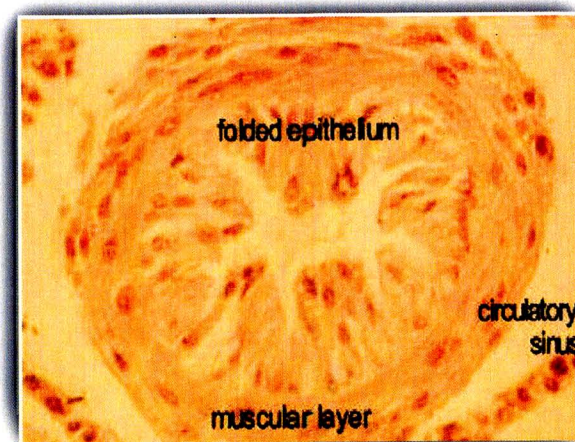


Figura 2. Oviducto (400X Hematoxilina y Eosina)
Fuente: http://ftp.censa.edu.cu/revistas_censa/rsa/v34n1/Fel01.pdf

Los oviductos son dos tubos delgados cuyo diámetro en *Rhipicephalus (B) microplus* oscila entre 75 y 140 micras, cuando tienen más de 48 horas post alimentación se fusionan debajo del receptáculo seminal para formar el oviducto o útero.

Durante la alimentación las células oviductuales proliferan y aumentan de tamaño para ubicarse en forma columnar. Los núcleos basales son generalmente amplios en posición central, aunque en algunas partes donde las células están muy apiñadas que parecieran situarse a diferentes niveles, los núcleos son ovals de forma esférica, ricos en cromatina y el citoplasma es finamente granular. En ocasiones las fibras musculares se convierten en capas distinguibles exteriores de tejido conectivo (Till, 1961).

La parte basal del citoplasma muestra una apariencia algo estriada, algunas veces en el lumen se pueden observar tejido granular y espermatóforos, estos últimos viajan del receptáculo seminal donde han estado almacenados desde el tiempo del apareamiento, hacia el ovario en el cual espera al ovario que se encuentra más próximo a la madurez (Till, 1961).

Tráquea

La respiración de las garrapatas se logra a través de un sistema traqueal. En todas las ninfas y adultas, el par de espiráculos se abren por las placas peritremáticas, las cuales yacen latero-ventralmente en cada lado del cuerpo de la garrapata, posterior al par de coxa IV.

El espiráculo está provisto con un mecanismo de cierre bajo control de nervios, los cuales se abren dentro de la cavidad auricular respiratoria, la cual se estrecha en el principal tronco traqueal.

Del tronco principal surgen ocho troncos traqueales los cuales dan lugar a ramificaciones secundarias a todas partes del cuerpo, las que terminan en finas ramificaciones o traquéolas que oxigenan densamente a todos los órganos internos. Histológicamente las tráqueas de garrapatas son similares a la de los insectos y su línea cuticular está cubierta por una capa filiforme en forma de espiral engrosada anillada, semejante a proglótidos (Balashov, 1972).



Figura 3. Esquema del sistema traqueal, señalado por las flechas
Balashov (1972)

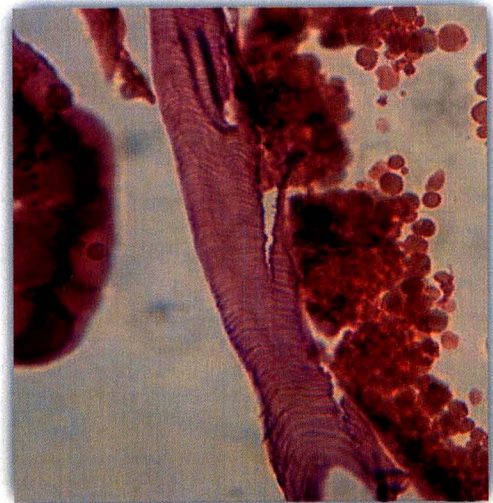


Figura 4. Tráquea
(400X Hematoxilina y Eosina)
Microfotografía Vindell y Saravia, (2012)

Ovarios

En las hembras adultas cuando completan el ciclo de ingurgitamiento, los óvulos experimentan un crecimiento muy rápido y marcado en el tamaño, los más desarrollados lograron alcanzar el tamaño máximo alrededor de dos días después de que la hembra deja el hospedador (De la Vega., *et al* 2012).

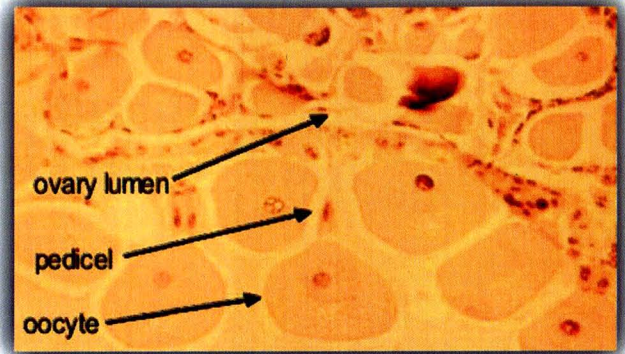


Figura 5. Sección transversal del ovario (560X Hematoxilina y Eosina)

Fuente: http://ftp.censa.edu.cu/revistas_censa/rsa/v34n1/Fel_o1.pdf

Este proceso continúa durante todo el período de ovoposición, incluyendo los óvulos no tan desarrollados, en el pliegue de la pared del ovario completan su crecimiento total y son expulsados del ovario, (De la Vega., *et al* 2012).

El ovario está compuesto por una pequeña capa de células epiteliales con núcleo redondo que circundan el lumen, donde se observan oocitos en las diferentes etapas de desarrollo (I, II, III, IV, V) y una etapa degenerativa (VI). Las células epiteliales son muy similares a las células pedicelares que se encargan de sostener a los oocitos en las etapas I y II, las cuales poseen una forma cilíndrica con núcleos largos elípticos, ocupando la mayor parte del citoplasma (De la Vega., *et al* 2012).

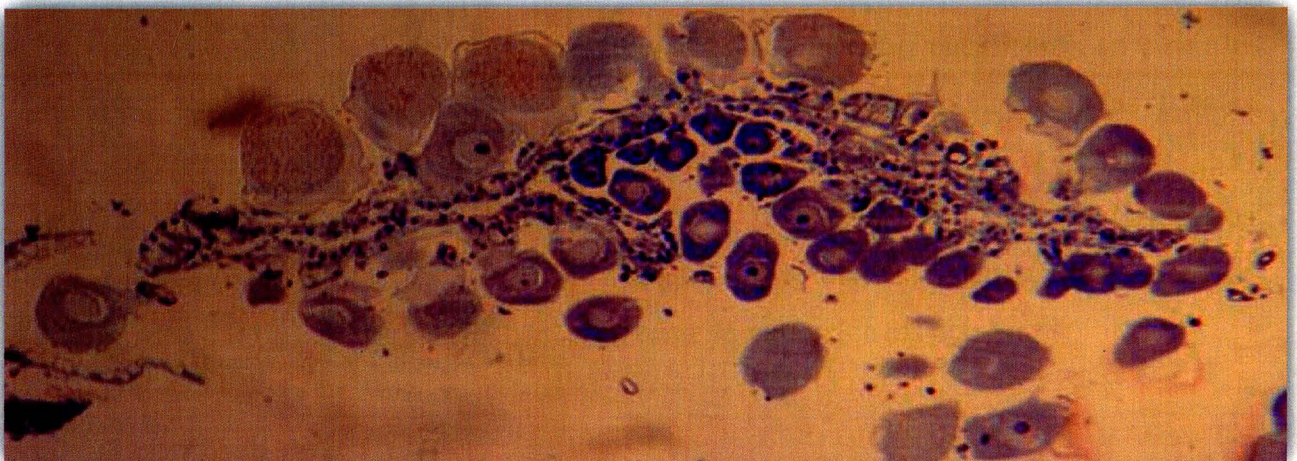


Figura 6. Racimos de ovarios con todas sus etapas (100X Hematoxilina y Eosina)
Microfotografía Mora (1996)

Intestino

Schulze (1943), ha descrito la morfología del intestino medio en varias especies de garrapatas de las familias Argasidae e Ixodidae y ha concluido que en ambas familias la disposición de los divertículos sigue un plan básico y que solo está sujeto a ligeras modificaciones.

Autores como (Mora, 1996); (Chinery 1964); (Tatchell, 1964); (Till, 1961) afirmaron que la pared del intestino de las diferentes especies de garrapatas está constituida por células epiteliales y que su estructura y función varían de acuerdo al grado de alimentación y con las fases evolutivas del ciclo biológico.

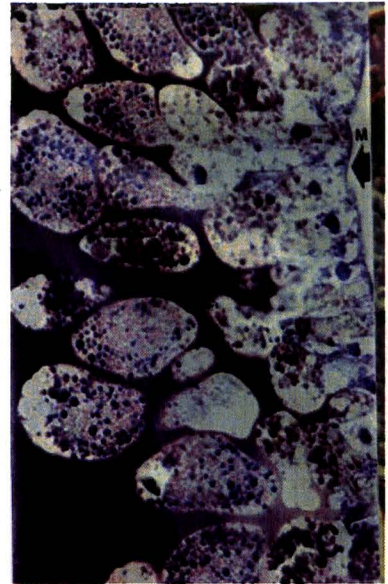


Figura 7. Células intestinales (1000X Tricrómico de Masson)
Microfotografía Mora (1996)

La organización celular del intestino según (Balashov, 1972), está compuesta por una membrana basal cubierta de fibras musculares longitudinales y circulares formando varias capas. Según este mismo autor el epitelio intestinal está compuesto por tres tipos de células,

denominadas células de reserva, digestivas y secretoras.

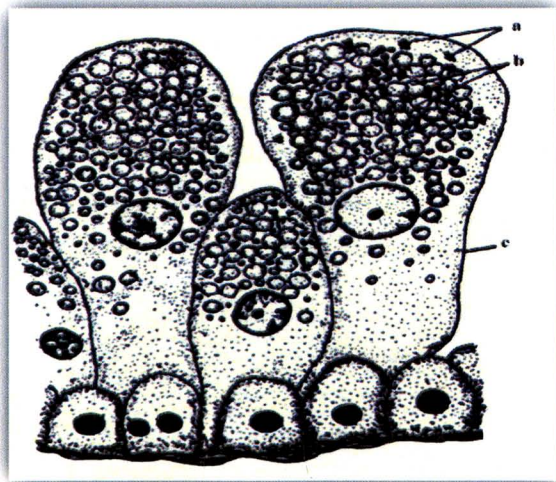


Figura 8. Esquema Intestinal a, hemafes; b, inclusiones de alimentos; c, células digestivas.

Balashov (1972)

Kemp y Agbede, (1986), citados por Mora (1996) en un estudio citológico de intestino de *Boophilus microplus* clasificaron en cinco los diferentes tipos de células, células basales, células digestivas, células secretoras (S1), células secretoras (S2), células basofílicas, según estos autores estas últimas persisten hasta la muerte de las hembras.

Túbulos de *Malpighi* (canales excretores)

En ellos se procesa bioquímicamente la síntesis y excreción de la guanina como producto final metabólico del nitrógeno. Estructuralmente están conformados por células epiteliales aplanadas cuboidales de tamaño medio, los túbulos miden entre 50 a 70 μ de diámetro y son translúcidos.

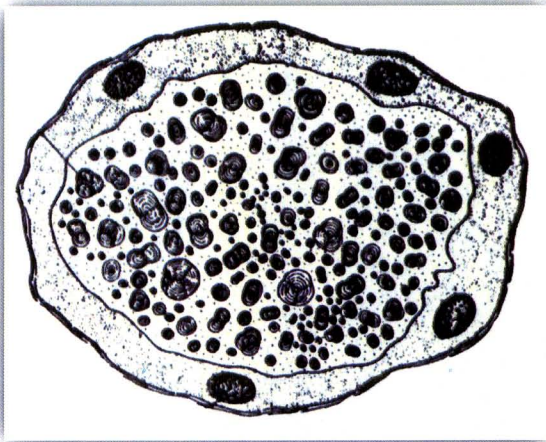


Figura 9. Esquema de tubo de Malpighi
Balashov (1972)



Figura 10. Túbulo de *Malpighi* conteniendo
guanina en su luz.
(100X. Hematoxilina y Eosina)
Microfotografía Vindell y Saravia (2012)

Glándulas salivales

Son estructuralmente heterogénea, constituidas de varios alvéolos: piramidal y varios tipos de células secretoras; los límites entre las células individuales son débilmente distinguible en microscopía óptica. Las células piramidales se encuentran en la mitad anterior de la glándula, tiene forma de pera o polígono irregular.

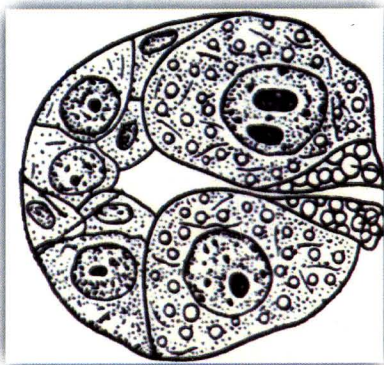


Figura 11. Esquema de Glándula salival
Balashov (1972)



Figura 12. Histología Glándula salival
(1000X. Hematoxilina y Eosina)
Microfotografía Vindell y Saravia (2012)

Descripción histología con daños de órganos internos de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

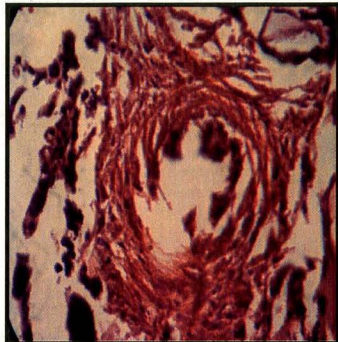
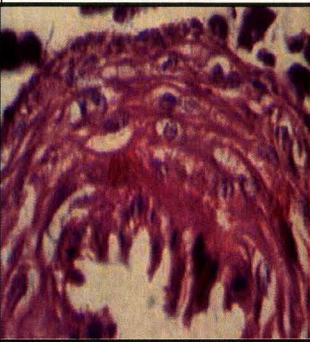

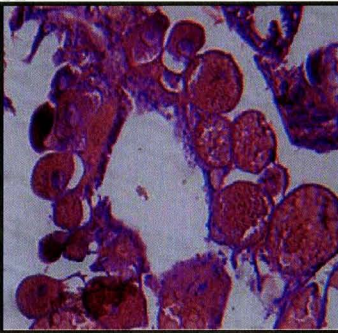


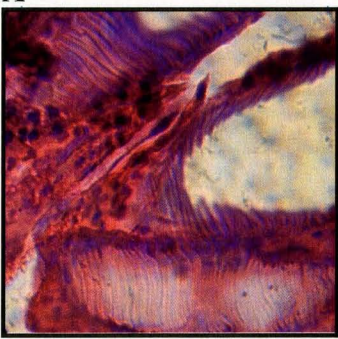
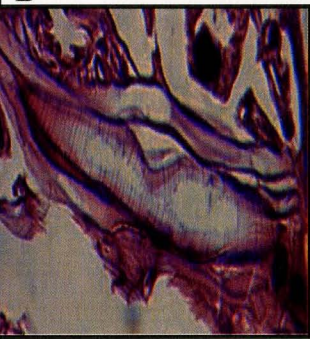
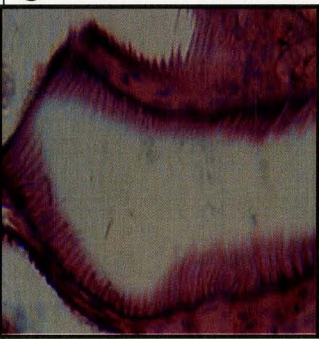
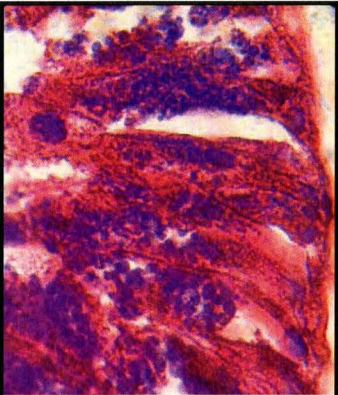
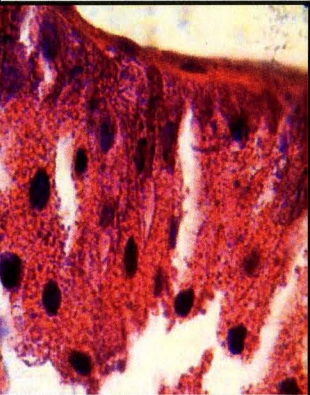

ÓRGANOS	A	B	C
Oviductos			
Ovarios			
Tráqueas			
Intestinos			

Figura 13: Órganos con alteraciones causadas por Ivermectina.
(Microfotografías por Vindell y Saravia, 2012)

Según Lifschitz *et al.*, 2002 citados por (Rodríguez *et al.*, 2010) todas las Lactonas Macroclínicas (LM) producen su efecto antiparasitario al incrementar la permeabilidad de la membrana celular por los iones de cloro (Cl⁻), con la consecuente hiperpolarización y parálisis de la musculatura faríngea y somática de los parásitos, sin embargo no hay detalles de los cambios degenerativos que sufren los órganos internos de los parásitos, como en la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* durante la parálisis.

Las lesiones observadas en los diferentes órganos internos de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, causado por la molécula comercial *Ivermectina 1%*, siendo esta la de mayor difusión y utilización (Rodríguez *et al.*, 2010) se evidencia la acción destructiva de las diferentes estructuras anatómicas a nivel celular; es así que en detalle:

Los oviductos de diferentes hembras adultas ingurgitadas (teleógina), que alcanzaron su desarrollo en bovinos tratados, presentan en la figura 13A, degeneración del protoplasma celular o vacuolización (Elorza, 2009) a nivel de las células basales; figura 13B desorganización nuclear y en la figura 13C lisis citoplasmática con ausencia de las fibras musculares circundante.

Los ovarios se presentan hipoplásicos, aunque todavía se pueden observar los diferentes tipos de oocitos en su desarrollo por etapas de maduración figura 13A; se puede notar ausencia de células pedicelares, las cuales sirven de sostén y los une en racimo a la pared del ovario, (De la Vega., *et al* 2012), figura 13B; oocito en su tercera etapa de maduración, el citoplasma está coagulado, núcleo desplazado y desorganización a nivel de membrana y aglutinación de oocitos en figura 13C.

Las tráqueas con daños severos, ruptura y desorganización generalizada, no se puede observar la estructura tubular anillada, la molécula fracturó toda la estructura anatómica de este órgano (Figuras 13A, 13B, 13C).

Las células intestinales en la figura 13A, se muestran con vacuolización y desorganización de los núcleos. En la figura 13B, se observa ruptura de membrana de las células secretoras y desintegración de células digestivas. En la Figura 13C, es evidente la aglutinación de las células basales y basofílicas, esto se debe al proceso de deshidratación severa.

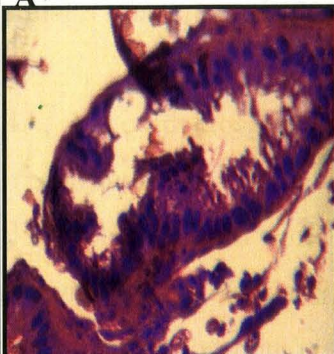



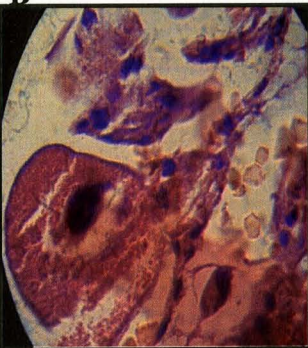
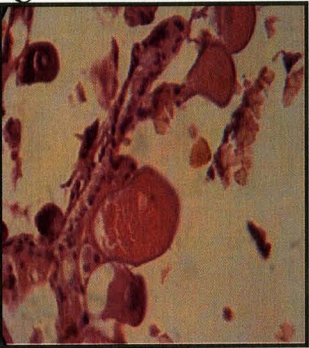
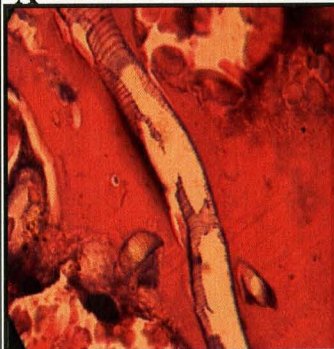


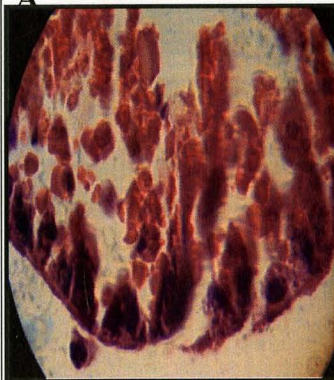

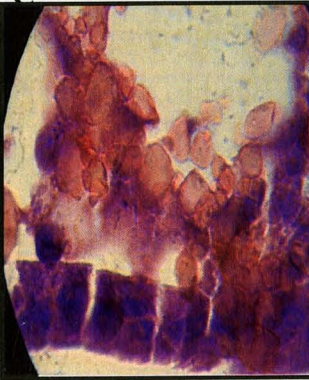
ÓRGANOS	A	B	C
Oviductos			
Ovarios			
Traqueas			
Intestinos			

Figura 14. Lesiones en órganos internos causados por Abamectina 1%
(Microfotografías por Vindell y Saravia, 2012)

Las lesiones encontradas en los órganos internos del espécimen en estudio causados por la molécula comercial *Abamectina al 1%*, se evidencia su acción destructiva.

En la figura 14A, los oviductos presenta un aumento del lumen por destrucción del epitelio plegado y desorganización nuclear debido a la pérdida de la capa muscular; en las figuras 14B está ausente el epitelio plegado con vacuolización de la capa muscular y destrucción de algunas células oviductuales; En la figura 14C ruptura de la capa muscular con marcada desorganización celular, se observan núcleos celulares por toda la estructura del lumen.

En la figura 14A, los ovarios se muestran con notable deshidratación del citoplasma de los oocitos y desintegración de las células ováricas. En la figura 14B, se observa aumento del oocito que muestra deshidratación y ruptura de las células pedicelares; En la figura 14C, separación de oocitos de la pared ovárica y pérdida de células pedicelares, deshidratación de los oocitos, ausencia de lumen ovárico.

Se observa las tráqueas con daños severos, ruptura y desorganización generalizada, no se puede observar la estructura tubular anillada, la molécula fracturó toda la estructura anatómica de este órgano; En la figura 14B, se observa una ausencia total de la estructura tubular anillada con marcada separación de la línea cuticular (Figuras 14A, 14B, 14C).

En la figura 14A, los intestinos presentan ruptura y destrucción de la membrana basal y las fibras musculares con migración de los núcleos. En la figura 14B, hay destrucción marcada de la membrana basal y fibras musculares con discontinuación de la estructura intestinal, barrido casi total de todas las células formes del intestino; En la figura 14C ausencia de la membrana basal, fibras musculares en procesos de deshidratación con presencia de zonas segmentadas, no se observan células secretoras.


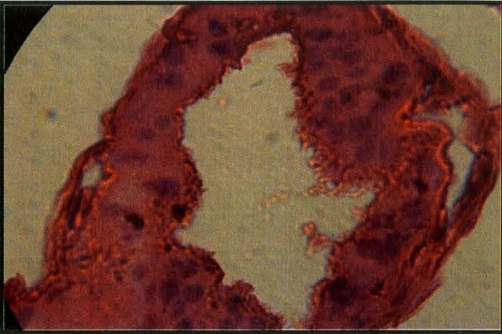
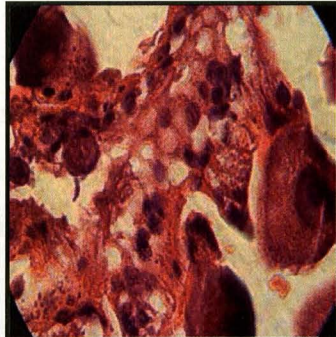
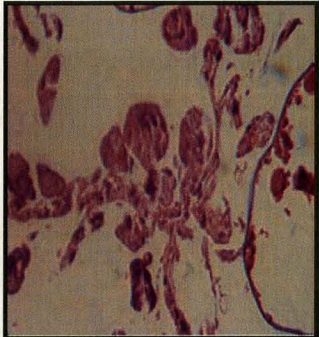




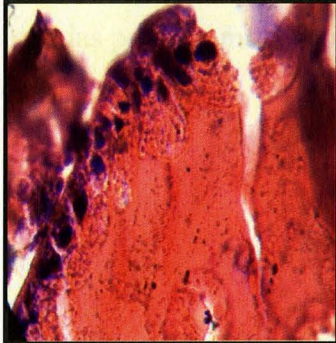
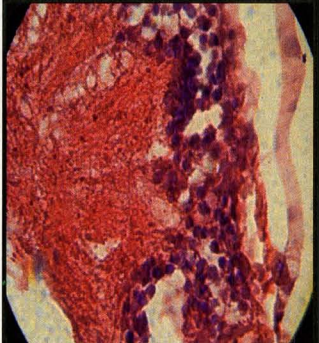
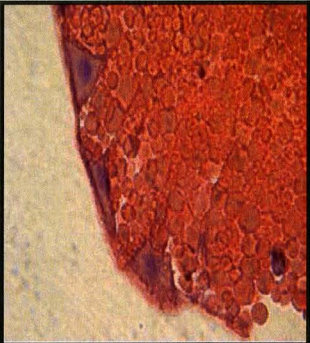
ÓRGANOS	A.		B.	
				
Oviductos				
Ovarios	A.	B.	C.	
				
Traqueas	A.	B.	C.	
				
Intestinos	A.	B.	C.	
				

Figura15. Lesiones en órganos internos causados por Doramectina 1%

(Microfotografías por Vindell y Saravia, 2012)

Las lesiones encontradas en los órganos internos del espécimen en estudio causados por la molécula comercial *Doramectina al 1%*, se evidencia su acción destructiva en la figura 15, y se detallan a continuación:

En la figura 15A, en oviductos se aprecia la estructura pero no la delimitación celular característica de este órgano, ausencia de fibras musculares, núcleos de las células y epitelio plegado licuefacto; En la figura 15B, ruptura de la capa muscular con aglutinamiento de los núcleos celulares, se observan vestigios del epitelio plegable.

En la figura 15A, los ovarios muestran licuefacción en células de la pared ovárica y células pedicelares con destrucción de oocitos. En la figura 15B, deshidratación de los oocitos en etapas I y II con desorganización de la pared del ovario; En la figura 15C, oocito con su vesícula germinal que muestra una marcada deshidratación.

En la figura 15A, en tráqueas puede apreciarse la línea cuticular con ruptura y ausencia de las estructuras tubular anillada. En la figura 15B, presenta una falta parcial de la estructura tubular anillada; en la figura 15C, ruptura de la línea cuticular y de estructura tubular anillada.

En la figura 15A, en intestinos se observan células digestivas sin daño aparente. En la figura 15B licuefacción y pérdida de la organización de las fibras musculares, con migración de los núcleos celulares; En la figura 15C, ruptura de la membrana basal, se aprecian células basales con eritrocitos del hospedador en el lumen, ausencia de células digestivas. Las diferencias de las lesiones causadas por esta molécula se explican por la colecta de especímenes en diferentes etapas de ingurgitación.


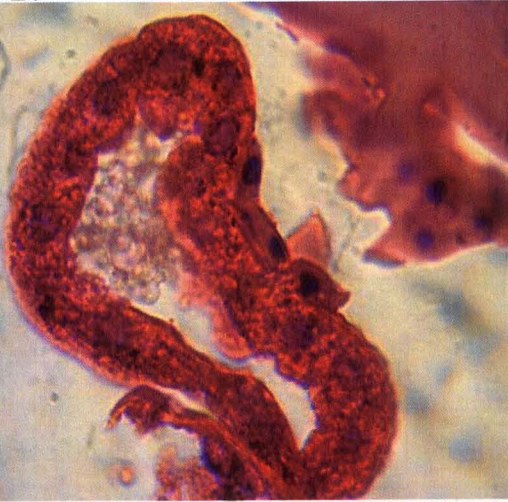

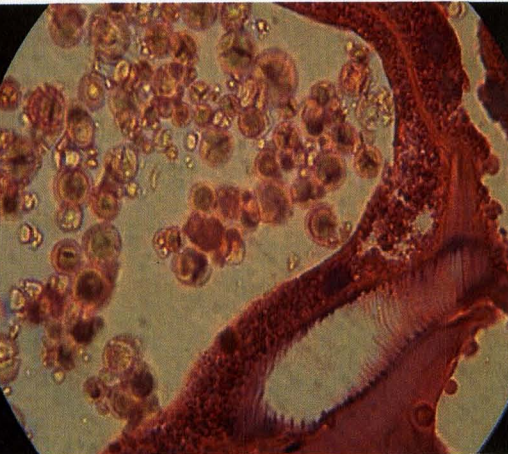
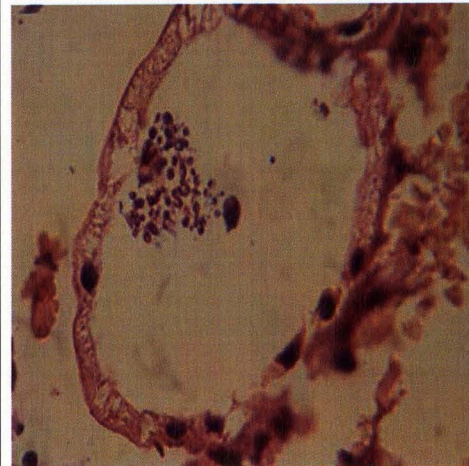
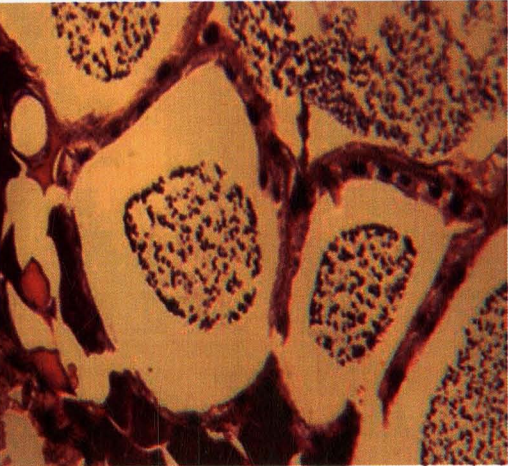
Moléculas	Túbulos de Malpighi	
Ivermectina 1%	A. 	B. 
Doramectina 1%	A. 	B. 
Abamectina 1%	A. 	B. 

Figura 16. Lesiones en Tubos de Malpighi causados por las moléculas en estudio
(Microfotografías por Vindell y Saravia, 2012)

En los túbulos de Malpighi afectados por moléculas en estudio las lesiones se detallan a continuación:

En la figura 16A, de *Ivermectina 1%* se observan las fibras musculares delimitando células epiteliales que presenta ausencia de núcleo a diferencia de la figura 16B, donde se encuentran bien definidas las células epiteliales con sus núcleos pero presenta pequeña licuefacción y ausencia de fibras musculares, se observan también esférulas de guanina (heces) en el lumen de ambas figuras.

En figura 16A, *Doramectina 1%* se muestra licuefacción de la fibra muscular y vacuolización de las células epiteliales con pocos núcleos celulares; En la figura 16B, se aprecia claramente la fibra muscular y se observa una moderada deshidratación en células epiteliales, sin delimitación de las antes mencionadas.

En la figura 16A, de *Abamectina 1%* se aprecia una destrucción parcial de las fibras musculares, por lo que las células epiteliales del túbulo están desorganizadas, de igual forma se observa ruptura epitelial y migración del núcleo celular hacia el lumen; En la figura 16B, se muestra ruptura de estructura celular y tejido adyacente en ambas cámaras tubulares.

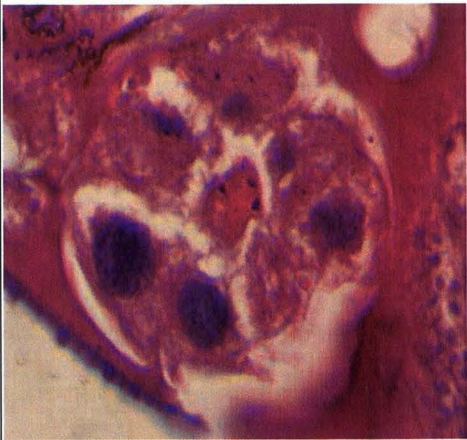
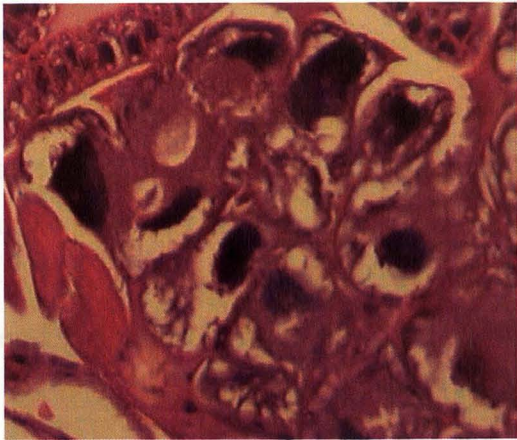
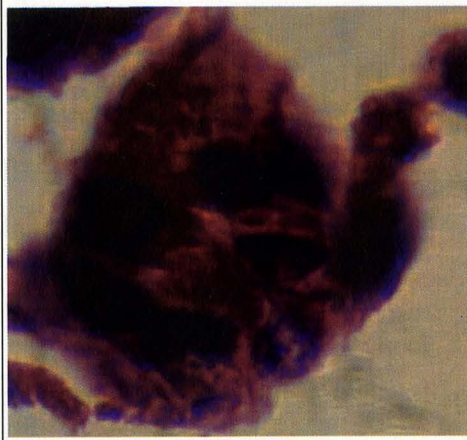
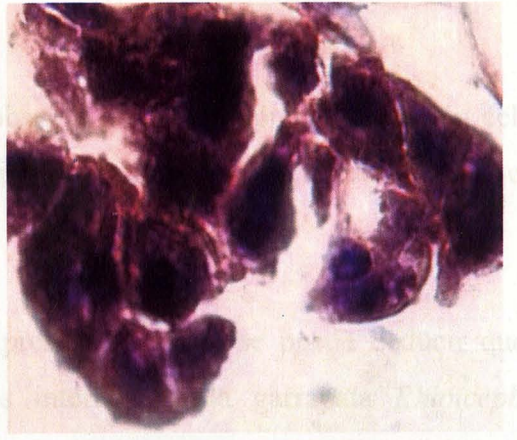
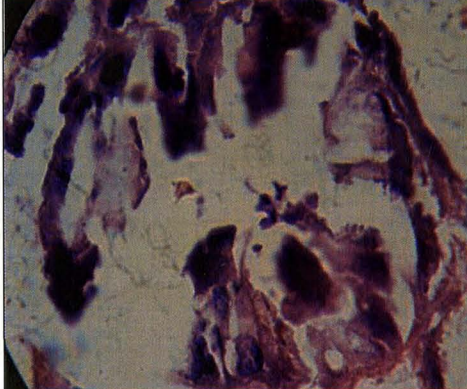
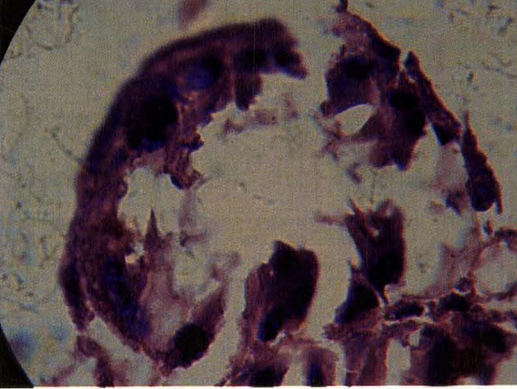
Moléculas	Glándulas salivales	
Ivermectina 1%	A 	B 
Doramectina 1%	A 	B 
Abamectina 1%	A 	B 

Figura 17. Lesiones en Glándulas salivales causadas por moléculas en estudios
 (Microfotografías por Vindell y Saravia, 2012)

En las glándulas salivales afectadas por moléculas en estudio las lesiones se detallan a continuación.

En la figura 17A, de *Ivermectina 1%* se muestra desorganización a nivel del epitelio celular, provocado por vacuolización, así como separación de las fibras musculares del tejido adyacente; En la figura 17B, se observa deshidratación y pérdida de tejido epitelial.

En la figura 17A, de *Doramectina 1%* se observa aglomeración del epitelio celular con migración de los núcleos celulares, no se observa tejido muscular adyacente; En la figura 17B, existe destrucción del tejido muscular adyacente y tejido epitelial con marcada deshidratación.

En la figura 17A y 17B de *Abamectina 1%* se observa deshidratación y destrucción celular, no se logra diferenciar la delimitación de este órgano debido a la vacuolización y destrucción causada por la molécula.

De acuerdo a los resultados encontrados en el presente estudio, se puede deducir que las lesiones encontradas en los diferentes órganos internos de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, causadas por las tres moléculas de lactonas macrocíclicas del grupo de las Avermectinas son idénticas en diferentes niveles de ingurgitación de teleóginas.

Estos resultados no se pueden comparar con estudios semejantes por que tales estudios hasta ahora son inexistentes, salvo los realizados por Mora (1996); Gutiérrez (2006), los cuales fueron dirigidos al estudio de lesiones causadas por inmunógenos, únicamente en intestinos y no por moléculas químicas ixodícidas o endectocidas.

El análisis descriptivo de las lesiones encontradas en los diferentes órganos internos, se contrapuso con estudios realizados por Till, (1961); Balashov, (1972); Cruz *et al.*, (1997); De la Vega *et al.*, (2012). Los cuales describieron la estructura histológica de diferentes especies de Ixodídeos en sus diferentes fases de desarrollo.

Las lesiones masivas en los órganos internos de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, van a influir directamente sobre la capacidad de alimentarse, influyendo por consiguiente en la reproducción, por lo cual las posturas van a ser afectadas, favoreciendo los planes sanitarios de control integrado de garrapatas en los pastizales.

V. CONCLUSIÓN

Este trabajo investigativo abre las puertas a investigadores para seguir indagando en el tema y así lograr descifrar una forma estratégica de combatir este problema parasítico, a través de la descripción histológica de órganos sin alteración y la descripción de daños encontrados en órganos internos producidos por las moléculas en estudio.

Para completar este estudio se hace necesario dar seguimiento a la viabilidad de las larvas, eclosionadas de posturas de garrapatas afectadas, acompañado del respectivo estudio histopatológico.

En lo relacionado al control integral de garrapatas, es necesario utilizar todas las herramientas que estos programas implican, para tener un efectivo programa sanitario para el control de parasitosis.

VI. RECOMENDACIONES

No utilizar indiscriminadamente las Avermectinas, ni alterar las dosis recomendadas por el fabricante, ya que con este trabajo demostramos que las Avermectinas al 1% a dosis recomendadas causan lesiones en los órganos internos de las garrapatas, las cuales son suficientes para alcanzar la estabilidad enzoótica en la relación garrapata y hemoparásitos. Estos resultados demuestran que no se hace necesario utilizar productos altamente concentrados como por ejemplo Ivermectina al 2%, 3.15% o más.

Realizar rotaciones de antiparasitarios, para evitar los problemas de resistencia y disminuir la contaminación generada por el abuso de las Avermectinas, como se puede observar en este trabajo todos los productos utilizados poseen una amplia capacidad para producir daños en órganos vitales de la garrapata, que se pueden considerar suficiente para alcanzar el control del parásito, y si a esto le sumamos las rotaciones entre desparasitante y acaricida obtendremos un resultado aun mayor y evitaremos causarle más daño al medio ambiente.

VII. Anexo



Anexo 1. Foto de Bovino afectado por garrapatas, seleccionado para estudio



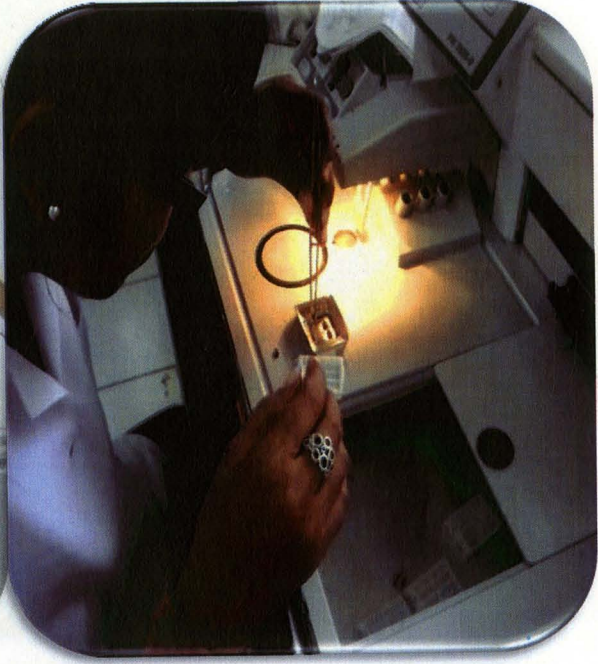
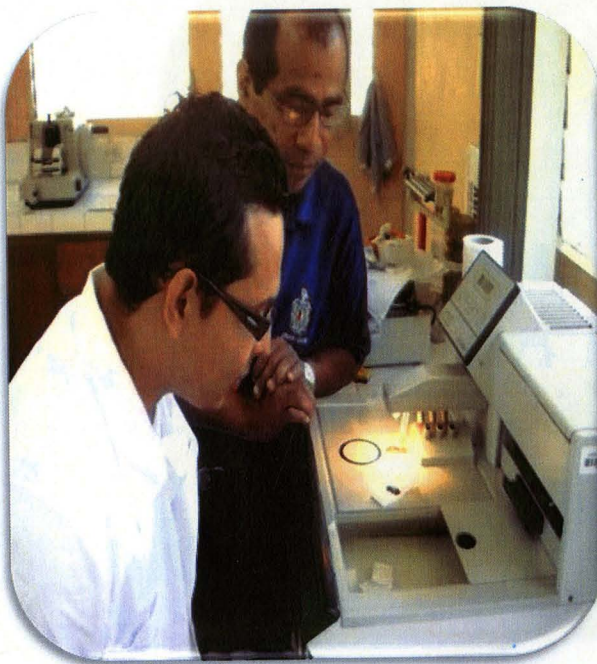
Anexo 2. Recolecta de especímenes en estudio



Anexo 3. Inoculación de formalina 10% por la placa anal



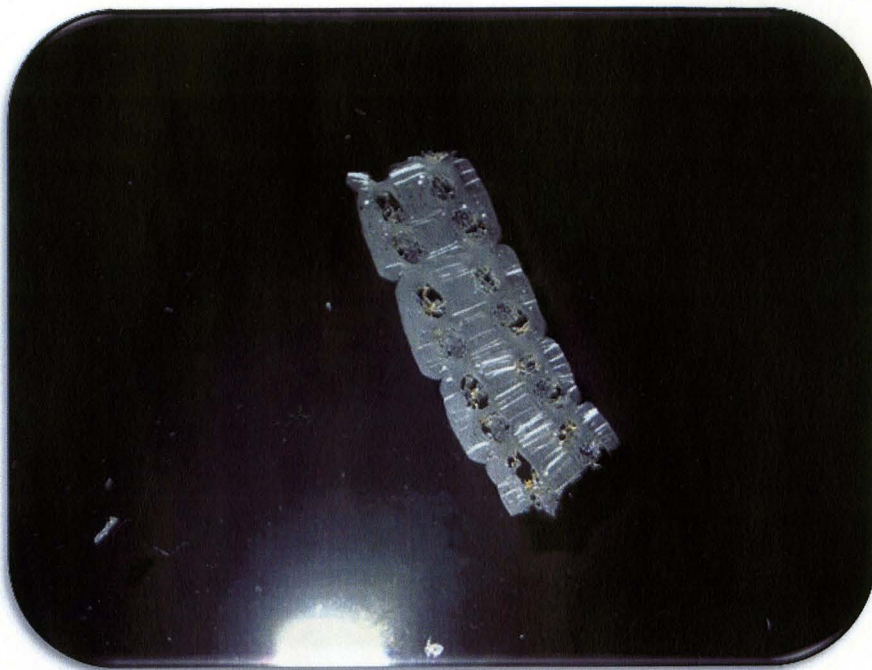
Anexo 4. Extracción de Cutícula o Exoesqueleto



Anexo 7. Inclusion de tejidos en parafina

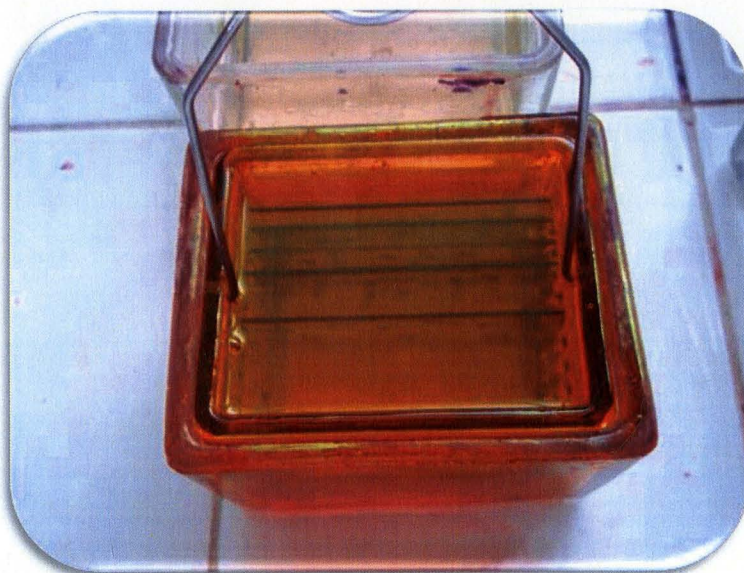


Anexo 8. Realización de cortes en el microtomo

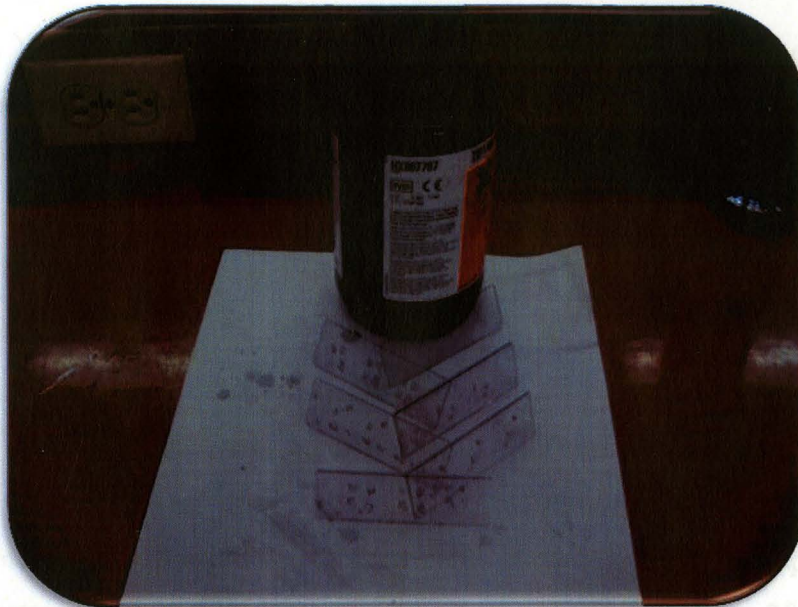


Anexo 11. Preservación de los cortes con

Anexo 9. Corte en baño María antes de ser montado en portaobjetos



Anexo 10. Láminas sumergidas en tinción de Eosina



Anexo 11. Preservación de los cortes con
Bálsamo del Canadá y cubre objeto

2. LITERATURA CITADA

- Balashov, Y. S. 1972. Bloodsucking ticks (ixoidea) - Vectors of diseases of man and animal. Hoogstraal H., Tatchell R. Baltimore, Md., US. Entomological society of america. 8 (5): 247-334 p.
- Chinery, W. A. 1964. The mid-gut epithelium of the tick *hemaphysalis spinigera*. Med. Entomol. 1:206-12 p.
- Cruz, C; García, Z; Quintero, M; Miranda, E. 1997. Histología del intestino de la garrapata (*Boophilus microplus*) en estado de semiingurgitamiento. Veterinaria México. v28. 303-307 p. (en línea). Consultado el 15 de oct. 2012. Disponible en: <http://revistaveterinaria.fmvz.unam.mx/fmvz/revvetmex/a1997/rvmv28n4/rvm28405.pdf>
- De la Fuente, J; Estrada, AP.; Venzal, JM.; Kocan, KM.; Sonenshine, DE. 2008. Overview: Ticks as vectors of pathogens that cause disease in humans and animals. Frontiers in Bioscience.13: 6938-6946 p.
- De la Vega, R; Díaz, G; Galán, M; Fernández, C. 2012. Anatomy and Histology of the female reproductive system of *Boophilus microplus* (acari: Ixodidae). Salud Animal. 34 (1). 1-10 p.
- De Elorza, M. 2009. Diccionario Médico Zamora. Editoriales Zamora. MX.
- González, R. 2007. Parasitología. Dinámica de la garrapata (*Boophilus microplus*), en el municipio de Siuna, Region Autónoma del Atlántico Norte. Médico Veterinario. Managua, Nicaragua. Universidad Nacional Agraria. 75 p.

- Gutiérrez, O.J. 2006. Identificación de órgano blanco en garrapatas de la especie *Boophilus microplus* para anticuerpos-antigarrapata de bovino inducido por inmunogeno Tick-Vac MK del laboratorio limar de Colombia S.A mediante métodos de inmunoperoxidasada. Tesis Microbiólogo Industrial. Bogotá, CO. Pontificia Universidad Javeriana. 91 p. (en línea). Consultado el 8 de julio 2013. Disponible en <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis265.pdf>
- Kemp, DH.; Agbede, R.; Johnston, L.; Gough, JM. 1986. Immunization of cattle against *Boophilus microplus* using extracts derived from adult female ticks: Feeding and survival of the parasite on Vaccinated cattle. *Int J Parasitol*, 16: 115-120 p.
- Manual Bayer de la garrapata. 2006 (en línea). ES. Consultado 8 julio 2013. Disponible en: http://www.bayersanidadanimal.com.mx/index.php?art_id=89&categ=80&expand=2/9/80&file=view_article.tp
- Mora, C. 1996. Antígeno vacinal rbm 86: avaliações laboratoriais e uso a campo como método auxiliar no combate ao carrapato dos bovinos, *boophilus microplus* (canestrini, 1887) no brasil. *Phylosophiae Doctor* em Medicina Veterinária. Seropédica, Rio de Janeiro, BR. Universidade federal rural do Rio de Janeiro Instituto de biología. 113 p.
- Ojeda, MM.; Rodríguez, RI.; Galindo, RL.; Cruz, C. 2011. Control de *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) mediante el uso del hongo entomopatógeno *Metahizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae). *Revisión. México Ciencias Pecuarias*. 2 (2). 177-192 p.
- Tatchell, R. J. 1964. Digestion of the tick *Argas persicus*. *Oken Parasitology*. 54: 423-440 p.

- Till, M. W. 1961. Memoirs of the entomological society of the southern Africa: A contribution of the anatomy and histology of the Brown ear tick *Rhipicephalus appendiculatus*. South African Institute for Medical Research. Pretoria, Union of South Africa. ZA. 6. 110 p.
- Rodríguez, R.; Arieta, R.; Pérez, L.; Rosado, J.; Ramírez, G.; Basto, G. 2010. Uso de lactonas macrocíclicas para el control de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en el ganado bovino. Arch Med Vet. 42. p 115-123. (en línea). Consultado el 8 de Julio 2013. Disponible en:
<http://mingaonline.uach.cl/pdf/amv/v42n3/art02.pdf>
- Rosado, JA; Aguilar, AJ; Rodríguez, RI; Borges, RZ; García, M; Méndez, M; Cáceres, A; Dorantes, E. 2008. Actividad ixodicida de extractos crudos de *Diospyros anisandra* contra larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: ixodidae). Redalyc. 8(3): 297 – 301 p. Disponible en:
<http://www.redalyc.org/pdf/939/93911235009.pdf>
- Sumano, HS; Ocampo LC. 2006. Farmacología Veterinaria. Alejandro Bravo Valdez. Tercera Edición. México, D.F. Mc Graw-Hill interamericana. 1082 p.